

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Clinique d'oto-rhino-laryngologie

FACULTÉ DE MÉDECINE
Professeur A. MONTANDON

Le lysozyme et l'activité antibactérienne de la salive

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine

par

Abraham YURKOFISKY

de

New York (USA)

Thèse N° 2433

Editions Médecine et Hygiène

GENÈVE

1957

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Clinique d'oto-rhino-laryngologie

FACULTÉ DE MÉDECINE
Professeur A. MONTANDON

Le lysozyme et l'activité antibactérienne de la salive

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine

par

Abraham YURKOFISKY

de

New York (USA)

Thèse N° 2433



Editions Médecine et Hygiène
GENÈVE
1957

La Faculté de médecine, sur le préavis de Monsieur le professeur A. Montandon, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 30 novembre 1956.

Le doyen :

Eric MARTIN

Thèse N° 2433

Nous tenons à remercier vivement Monsieur le Professeur A. Montandon, Directeur de la Clinique Oto-rhino-laryngologique de l'Hôpital cantonal de Genève, le Dr Rauch, Chef de clinique qui a bien voulu inspirer et diriger cette thèse, ainsi que le Docteur Tarab.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Introduction

A la suite de la découverte par Fleming en 1933 d'une substance capable d'exercer une activité lytique sur de nombreux micro-organismes, une quantité considérable de travaux sur le lysozyme ont été effectués, tant du point de vue bactériologique que biochimique. Cependant, si nos connaissances actuelles concernant le lysozyme dans le sang, les larmes et les tissus sont relativement étendues, par contre, le lysozyme salivaire est encore mal connu. Et pourtant, la question a son importance. L'Ecole italienne, celle de Cagliari en particulier, a produit de nombreux travaux tendant à démontrer que le lysozyme n'est pas doué uniquement d'une activité lytique, mais qu'il présente également un pouvoir inhibiteur vis à vis de certains virus. Selon Caselli, le lysozyme serait aussi important dans certains phénomènes immunologiques. En outre, il existe une relation étonnante entre le taux du lysozyme salivaire et la carie dentaire. D'autre part, des travaux expérimentaux ont pu démontrer le rôle joué par cet enzyme dans les ulcérations du tube digestif. L'intérêt du sujet paraît donc considérable. Il est vrai que précédemment, les méthodes servant à déterminer l'activité du lysozyme étaient difficiles et laborieuses. Ceci pourrait expliquer le nombre peu considérable de travaux concernant le lysozyme salivaire. Récemment toutefois, de nouvelles méthodes ont été élaborées permettant de déterminer rapidement le taux d'activité de cet enzyme dans des conditions de laboratoire constantes.

Dans ce travail, nous étudierons le pouvoir antibactérien de la salive en insistant particulièrement sur le lysozyme, cette substance étant actuellement la mieux connue des substances antibactériennes présentes dans l'organisme. Des observations concernant les taux normaux et pathologiques du lysozyme dans la salive seront rapportées. Enfin, nous étudierons brièvement à titre comparatif le lysozyme présent dans les larmes, le mucus nasal, le sang et ailleurs. Des travaux additionnels, notamment le taux physiologique de lysozyme dans les diverses sécrétions de la cavité buccale et des fosses nasales, sont actuellement en cours à la Clinique ORL de Genève.

Rappelons pour clore cette introduction que si Fleming avait décrit en 1922 une substance ayant une action lytique sur divers micro-organismes et en particulier sur *Micrococcus lysodeitolicus* (... "a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions...") d'autres auteurs avaient précédemment découvert des substances possédant une activité semblable. Ainsi, en 1909, Laschtschenko avait noté le pouvoir lytique du blanc d'oeuf sur des bacilles du groupe *Subtilis*,

et en 1901, Suzuki avait trouvé une action semblable dans les extraits de leucocytes. En 1919, Bloamfiels avait constaté la lyse de diverses espèces de Sarcina par la salive. Aucun auteur n'avait cependant isolé le principe actif avant Fleming.

II. Considérations biochimiques et bactériologiques

Distribution : Le lysozyme est présent dans presque tous les tissus animaux, mais semble manquer dans le cerveau (Chimura, Bordet), dans l'humeur aqueuse et dans la vitrée (Cutinelli, Bonavolontà), dans la transpiration, dans l'urine et dans la bile. Le liquide amniotique au neuvième mois en contient (Vecchiotti), de même que tous les tissus fœtaux; le lait maternel et le colostrum renferment également du lysozyme. Les larmes, la salive et le mucus nasal sont particulièrement riches en lysozyme. Le sang en contient également, l'enzyme étant surtout présent dans les leucocytes (Flanagan). La rate, le foie et le cartilage renferment aussi des quantités notables de lysozyme. L'enzyme est également contenu dans les selles.

Le sang des amphibiens et des poissons semble privé de lysozyme (Caselli). Selon cet auteur, les différences de distribution du lysozyme dans le sang des vertébrés pourrait expliquer les variations dans l'immunité naturelle de diverses espèces animales. C'est dans le blanc d'oeuf de poule, cependant, que se trouve des quantités importantes de ce ferment; c'est de là que sont extraites les plus grandes quantités de lysozyme. La plupart de nos connaissances concernant ce ferment proviennent du lysozyme du blanc d'oeuf (vendu dans le commerce par Armour laboratories). Il est intéressant de constater que le lait de vache et de brebis ne contient pas de lysozyme. D'après Melnik, les selles d'enfants allaités au sein renferment cet enzyme, contrairement à ceux qui sont nourris au lait de vache.

Dans le règne végétal le lysozyme se fait beaucoup plus rare. D'après Albano, l'enzyme est présent dans la figue d'Inde et dans le citron. Smith et Kimmel ont pu l'isoler du latex de Papaya.

Le lysozyme se trouve également dans quelques champignons inférieurs (Actinomycètes) et dans certaines bactéries.

Il faudrait faire remarquer toutefois que les lysozymes extraits de sources si différentes ne sont pas absolument identiques. Ce fait avait été noté par Fleming; celui-ci parlait de "Lysozymes like substances"; cependant, leurs constitutions et propriétés sont foncièrement semblables. Cette réserve faite, nous continuerons de parler de "lysozyme" étant bien entendu que cette substance n'est pas strictement identique suivant les sources utilisées. Ce sujet sera d'ailleurs discuté plus loin, de même que la signification et le rôle joué par le lysozyme dans la nature.

Considérations chimiques : Le lysozyme est un polypeptide sulfuré, basique, à poids moléculaire assez bas (entre 2800 et 14600) avec un point isoélectrique élevé (pH 11, environ) et constitué par une chaîne peptidique de 125 acides aminés. L'histidine, la tyrosine et la phénylalanine sont présents respectivement à raison de 1,3 et 3 résidus par molécules. * Au moyen de la désamination et de l'hydrolyse partielle, la structure et les enchaînements de plusieurs acides aminés formant la molécule du lysozyme ont été déterminés. (Acher et coll.)

Le lysozyme résiste à la dessiccation, à la lumière et à la plupart des désinfectants locaux mais est détruit par les rayons ultra-violet, les acides et les alcalis concentrés. L'enzyme est bien filtrable avec le cellophane, se laisse absorber par du kaolin, du charbon, de la cellulose et se fixe aux graisses.

Mode d'action du lysozyme sur les micro-organismes : Le fait que le lysozyme provenant du blanc d'oeuf lyse rapidement les cellules intactes de *Micrococcus lysodéicticus* fait penser qu'une transformation radicale se déroule dans la cellule (Meyer, Palmer, Thompson et Khora-zo). Quoique Boasson ait déclaré que la paroi cellulaire du *Micrococcus lysodéicticus* ne subit pas d'altérations, des travaux récents au microscope électronique ont démontrés de façon convaincante la lyse de la paroi cellulaire par l'enzyme. Les photos prises par Salton avec le

* La tryptophane est contenue à raison de 8 résidus par molécule et la cystéine à raison de 5 résidus par molécule. La molécule contient également de la méthionine, de la proline, de la lysine et des traces d'histidine.

microscope électronique mettent clairement en évidence la lyse de la paroi cellulaire. Ces travaux, de même que ceux de Meyer, indiquent que le lysozyme produit une dépolymérisation de toute la paroi cellulaire de Micrococcus lysodeikticus. Cette paroi serait constituée d'un mucopolysaccharide hautement polymérisé et insoluble.

Les travaux de Grula et Hartsell avec le microscope électronique confirment ces hypothèses. Ces auteurs ont également expliqué un phénomène que Nakamura avait décrit en 1923 (phénomène de Nakamura ou "alkali-phénoménon"). Ce dernier avait découvert que lorsque de l'alcali était ajouté à une suspension de Micrococcus lysodeikticus lysée par le lysozyme la solution s'éclaircissait brusquement. Grula et Hartsell ont pu démontrer qu'avec une solution acide la lyse de la paroi cellulaire a eu lieu et que l'alcali, ajouté ensuite, solubilisait le cytoplasme. En outre, la solubilisation du cytoplasme par l'alcali n'est possible que lorsque la membrane a été lysée au préalable. D'autre part, les cellules Gram+ deviennent Gram- lorsque la lysozyme a altéré la perméabilité cellulaire en attaquant la membrane. Ces mêmes auteurs ont pu démontrer également que le lysozyme ne lyse que la paroi cellulaire; la dissolution du cytoplasme, ainsi que nous l'avons mentionné, est en rapport avec le pH de la solution.

Le lysozyme a plusieurs des caractéristiques d'un autre enzyme mucolytique, l'hyaluronidase. Comme cette dernière, le lysozyme peut être oxydé de façon réversible, et à basse concentration. Il se produit premièrement une catalyse avec dépolymérisation du substrat avec peu ou pas d'augmentation des groupements réducteurs. En plus, dans les deux systèmes enzymatiques, l'ionchlore active l'action dépolymérisante, tandis que la scission des groupements glucosidiques ne nécessite pas la présence du chlore. Il semble que ces 2 enzymes mucolytiques, en commun avec d'autres polysaccharidases, tels que l'amylase et la pectinase peuvent fonctionner comme dépolymérases ou comme glucosidases (Meyer et Hahnel).

Lorsqu'on emploie de hautes concentrations de lysozyme sur un substrat de mucopolysaccharides, il se produit une hydrolyse des liaisons glucosidiques avec apparition de sucre réduct et d'acétylhexosamine (Meyer et Hahnel).

Tendance du lysozyme à former des complexes protidiques et non-protidiques de charge négative : Ces recherches sont dues surtout à Caselli et expliquent en partie le fait que le lysozyme existe dans de nombreux tissus sans manifester d'activité. Le lycozyme, de nature basique, possède, en effet, une forte tendance à former des complexes dans un milieu neutre avec des colloïdes acides non-protidiques (acides biliaires,

acides nucléides, acides polysacchariques) et avec des colloïdes acides protidiques (nucléoprotéines, mucoprotéines, lipoprotéines et protéines simples). D'après Caselli, ceci explique les phénomènes d'inhibition que le lysozyme exerce sur des colloïdes acides et sur certains virus. Ces phénomènes sont réversibles; ainsi on comprend la présence du lysozyme dans certains tissus (cartilage, néoplasmes contenant beaucoup de mucoïdes). Dans diverses sécrétions, l'enzyme serait aussi lié à des colloïdes électronégatifs. La protamine, qui est aussi chargée positivement, aurait une action semblable; mais ajoute Caselli, celle-ci n'est pas en liberté dans l'organisme comme le lysozyme. On conçoit donc l'intérêt que présente cette protéine à charge positive (le lysozyme) répandue dans l'organisme et dont l'action n'est pas seulement bactériolytique mais est beaucoup plus complexe (immunologique, inhibitrice vis-à-vis de certains virus). Le problème sera encore considéré dans le chapitre consacré à la bactériologie.

Facteurs affectant l'activité lytique du lysozyme : Ce sujet a été particulièrement étudié par Smomelis et Hartsell. Le lysozyme présente son maximum d'activité lytique entre 37° et 52° C. Ces auteurs ont souligné l'importance que le pH du milieu revêt: le lysozyme est inactivé en étant maintenu à 75° C. pendant 30 minutes; mais dans un milieu tampon, l'enzyme est bien plus résistant. Ainsi à

80°C pendant 30 min., on note 5% de perte d'activité, et à

100°C pendant 20 min., on note 25% de perte d'activité, en sorte qu'on peut conclure que le lysozyme est remarquablement thermostable, surtout dans un milieu tampon.

Dans un milieu alcalin, l'enzyme est inactivé alors qu'il conserve son pouvoir en milieu acide (pH optimal pour l'activité lytique 6,6) et même en milieu neutre. D'après les méthodes viscométriques de Meyer et Hahnel, l'activité optimale d'après la libération de groupement réducteur aurait lieu à pH de 5,3 alors que l'optimum mesurée d'après la libération de groupement réducteur serait situé à un pH de 4,95.

Les ions contribuant à l'efficacité de la lyse bactérienne sont par ordre d'activité croissante: le calcium, le magnésium, l'ammonium, le potassium et le sodium. Ces ions contribuent probablement à solubiliser les résidus de la lyse bactériologique (en relation avec le phénomène de Nakamura).

La qualité de la solution tampon affecte aussi l'activité du lysozyme (Dickman et Proctor). Avec 0,1M de citrate, l'optimum de l'activité lytique se trouve à un hP de 4,7, alors qu'avec une solution de 0,025M de citrate, l'optimum de l'activité lytique se situe à

pH 5,9 - 6,3. Il n'y eut pas d'inhibition avec 0,1M phosphate, mais une diminution d'activité de 20% a été notée avec 0,03M de trichloro-acétate à pH 4,64. Cette inhibition est réversible en cas de dilution. Les résultats démontrent que des solutions de citrate et trichloro-acétate peuvent inhiber de façon réversible le lysozyme tout en altérant l'optimum de l'activité lytique.

Facteurs Inhibiteurs : L'eau de mer, l'eau stagnante, les températures très élevées, quelques liquides organiques (bile, urine), l'héparine et les sulfamidés (Meyer) agissent en inhibant le ferment. Cliniquement la cortisone semble inhiber également l'activité bactériolytique du lysozyme.

Effets de l'urée et du glycérol (étudiés par Dickman et Proctor) : Les courbes de l'activité lytique montrent qu'avec l'urée une activation de 60% est apparente durant les premières minutes de la réaction. Après 10 minutes toutefois, le lysozyme a été inactivé.

L'addition de 4M glycerol donnait lieu à une diminution de l'activité lytique de 10%.

Détermination de l'activité lytique du lysozyme : Depuis la découverte du lysozyme en 1922 par Fleming de nombreuses méthodes servant à déterminer l'activité lytique du ferment ont été proposées. La plupart de ces méthodes étaient basées sur l'éclaircissement d'une suspension de bactérie sensible à l'effet du lysozyme. Les travaux d'Alderton et Fevold en 1946 permettant d'obtenir du lysozyme pur à partir du blanc d'oeuf ont naturellement contribué à l'élaboration de méthodes plus précises.

Dans son ouvrage original, Fleming avait noté la lyse sur solution d'agar de *Micrococcus lysodeikticus*. Goldsworthy et Florey (1930) ont introduit une méthode de détermination de l'activité lytique du lysozyme sur *Micrococcus lysodeikticus* au moyen d'une comparaison colorimétrique de la suspension avec une solution standard de sulfate de barium.

Méthode de Rosenthal et Lieberman (1931) : action du lysozyme sur *Sarcina* présent dans les selles.

Boasson (1938) : mesure optique de la turbidité d'une suspension du micro-organisme détruite par du phénol et mélangé à différentes concentrations de lysozyme.

Meyer et Hahnel (1946) : Suspension de *Micrococcus lysodeikticus* dans une solution M/15 de phosphate avec des solutions de différentes concen-

trations de lysozyme. Après une heure d'incubation à 37° C, deux gouttes de solution normale d'hydroxyde de soude sont ajoutées et la turbidité de la solution est mesurée par des mesures optiques. Selon ces conditions, une unité de lysozyme = la plus haute dilution de lysozyme donnant un éclaircissement de la suspension.

Hartsell (1948) : suspension de *Micrococcus lysodeikticus* sur solution tampon de phosphate à pH 6,2 mélangée à du lysozyme contenu dans de la poudre d'oeuf déshydratée. Température d'incubation à 52°C. Détermination de l'éclaircissement de la suspension.

Smomellis et Hartsell (1949) : Emploi des rayons ultra-violets pour tuer les germes. (*Micrococcus lysodeikticus*). Une suspension de *Micrococcus lysodeikticus* est placée dans une solution tampon de phosphate à pH 6,2 étincubée. Après dix-huit heures à 37°C, les cellules sont récoltées dans une solution tampon de phosphate et la suspension exposée aux rayons ultra-violets; une lampe de quartz germicide est placée à 10 cm au-dessus d'une plaque de verre vénitien. La suspension s'écoule lentement sur le côté irrégulier du verre. Cette procédure est répétée une seconde fois. Les germes sont donc exposés deux fois à 2,700 microwatts par cm², en sorte que lorsque toutes les cellules sont tuées, celles-ci sont récoltées, congelées, séchées dans un vide et gardées à 4°C. jusqu'au moment où elles seront employées.

La suspension est faite dans une solution tampon de Sørensen à pH 6,2. La turbidité de la suspension est ajustée pour montrer une transmission de lumière à 10% dans un spectro-photomètre avec un filtre PC-4, et à une longueur d'onde de 540 mμ. Avec de l'eau distillée, la transmission de lumière doit être de 100%.

A partir d'une solution à 1 : 10.000 de lysozyme cristallisée, des solutions sont faites avec une solution tampon de Sørensen à pH 6,2. Des dilutions allant de 1: 200.000 à 1: 6.400.000 sont pratiquées.

Avant l'épreuve, les éprouvettes doivent montrer la même transmission de lumière. A des intervalles réguliers, 5 ml. de lysozyme est ajouté à 5 ml. de la suspension. Après vingt minutes d'incubation à température de chambre, les mesures sont prises.

L'intérêt de cette méthode réside dans le fait que les rayons ultra-violets sont employés pour tuer les micro-organismes, alors que précédemment, du phénol était utilisé à cet effet. Or, l'action du phénol est incertaine alors que les rayons ultra-violets tuent presque toutes les cellules sous les conditions citées.

Méthode de Dickman et Proctor (1952) : Celle-ci repose également sur la détermination de la turbidité d'une suspension de micro-organismes mélangés à du lysozyme. Des portions d'une suspension congelée de *Sarcina lutea* sont mélangées à de l'eau jusqu'à ce que 1 ml. de cette suspension ajoutée à 3 ml. d'eau et à 0,4 ml. de 4 M. de soude caustique montre une densité optique approximative de 0,7 apparente à 440 nu.

Ces deux dernières méthodes ont été décrites en détail, car elles sont actuellement les plus employées.

Méthode de détermination de l'activité mucolytique du lysozyme : Meyer et Hahnel ont introduit celle-ci en 1946 en employant le pouvoir mucolytique du lysozyme sur un substrat de mucopolysaccharides de la paroi cellulaire de *Micrococcus lysodeikticus* et en mesurant par des moyens viscométriques la viscosité de la solution.

Ces auteurs critiquent les méthodes employant l'activité lytique du lysozyme sur des germes. D'après eux, des ferments contenus dans les cellules bactériennes faussent les résultats; en outre, la sensibilité des micro-organismes vis-à-vis du lysozyme varie selon les milieux de conservation et les méthodes employées pour tuer les bactéries. Toutefois, la technique est laborieuse et nécessite des moyens de laboratoire spéciaux.

Bactériologie : Il a déjà été mentionné que le lysozyme lyse les micro-organismes en dépolymérisant les mucopolysaccharides de la paroi cellulaire. Quels sont les germes attaqués par le lysozyme ? Classiquement, les saprophytes et les bactéries non-pathogènes sont susceptibles d'être lysées par le lysozyme; *Micrococcus lysodeikticus* et certaines souches de *Sarcina lutea* sont particulièrement sensibles à cet enzyme et sont couramment employés pour la détermination de l'activité du lysozyme. Cependant, l'action du lysozyme est plus complexe. Ainsi, la littérature indique que le lysozyme n'affecte pas les bacilles Gram - de l'intestin, quoique des phénomènes d'inhibition et quelques fois de lyse aient été observés chez certaines souches de bacilles Gram - pathogènes.

En 1952, Meyerholz et Hartsell ont démontré que les bacilles Gram - qui ne sont pas lysés par le lysozyme sous des conditions habituelles, le deviennent lorsque de l'alcali est ajouté à la solution (phénomène de Nakamura). Peterson et Hartsell ont effectué des travaux sur des bacilles Gram - intestinaux et ont trouvé que :

1) Le lysozyme agit sur des germes Gram - si certaines conditions expérimentales sont remplies (cellules cultivées pendant 18 heures à 25°C, exposées au lysozyme à un pH de 3,5 des dilutions d'acide

chlorhydrique et incubées à 45°C pendant une heure; ensuite adjonction de solution N/20 de NaOH jusqu'à un pH de 9,8 avant qu'on baisse la température au-dessous de 40°C).

2) On peut diviser les germes Gram - en trois groupes d'après leur sensibilité au lysozyme :

- a) Groupe I (germes lysés par le lysozyme): Salmonella, Brucella.
- b) Groupe II. (germes relativement sensibles au lysozyme): Klebsiella, Shigella, Neisseria, Pseudomonas, Pasteurella, Erwinia et Escherischia.
- c) Groupe III. (insensibles au lysozyme): Vibrio, Proteus.

3) Des études sur la viabilité de ces germes montrent que les espèces insensibles à l'action du lysozyme et que quelques espèces relativement peu atteintes par cet enzyme étaient toutefois nettement inhibées dans leur croissance.

D'autre part, Klemparskaia aurait démontré que le lysozyme a également une action agglutinante envers de nombreux micro-organismes (cité par Rudino et par Mariani); cette action agglutinante a été observée aussi par Friedberger et Hoder.

Le lysozyme est en outre une des rares substances naturelles ayant une action sur le bacille de Koch. Wolff en 1928 avait déjà remarqué cette action inhibitrice; Carper également avait signalé cet effet mais ce n'est que récemment que des travaux expérimentaux ont pu démontrer clairement le pouvoir antituberculeux du lysozyme. Etudiant l'effet des anticorps spécifiques dans le sang pour les hydrates de carbone contenus dans le bacille de Koch, Weiser a constaté que les séra exerçaient une action inhibitrice sur le bacille de Koch; ce pouvoir est dû au lysozyme présent dans le sang (dans les leucocytes surtout). In vitro, à une concentration de 100 à 500 mq de lysozyme d'oeuf/ml, il se produit un arrêt de croissance de colonies tuberculeuses. De 1000 à 2000 mq de lysozyme/ml. 98 % des B.K. étaient détruits. Au microscope électronique, les membranes cellulaires des B.K.- étaient détruites. In vivo, l'administration ou l'application de lysozyme dans la tuberculose expérimentale n'a toutefois pas donné des résultats probants.

L'action du lysozyme sur les germes n'est spécifique ainsi que le démontre les travaux de Sangiorgi: des bactéries devenues résistantes à des solutions graduellement concentrées de blanc d'oeuf restent résistantes en présence de sang. Weiser a aussi pu produire des souches de Sarcina résistantes au lysozyme. La nature de la résistance

microbienne envers des solutions de lysozyme n'est pas comprise.

Virologie : La plupart des auteurs italiens (Caselli, Rudinu, Mariani, Orzalesi et Miglior, Sangiorgi) estiment que le lysozyme possède une action inhibitrice envers certains virus. A cet égard les faits suivants sont à relever après Rudinu: 1) Orzalesi, Miglior et Cadettu ont remarqué que le virus de l'herpès simplex s'attaque aux tissus les moins riches en lysozyme dans l'organisme, tissus dont l'activité bactériolytique n'est accrue par l'introduction de lysozyme dans l'animal (Sangiorgi); 2) que le virus herpétique se développe dans l'oeuf de poule n'ayant plus de pouvoir lytique, soit après le sixième jour d'incubation (Girfanova, Colucci et Jacono); 3) et que le virus herpétique se fixe sur les muqueuses lorsqu'il existe des conditions modifiant les taux de lysozyme dans les sécrétions. Ces derniers auteurs ont pu démontrer in vitro une nette action inhibitrice sur le virus herpétique. Dans la kératite herpétique expérimentale chez le lapin, des résultats intéressants ont été obtenus. Chez le lapin dont la cornée a été inoculée avec le virus, la cécité et la mort surviennent 10 à 15 jours après l'encéphalite herpétique. Les lapins ayant reçu du lysozyme sont, par contre, épargnés.

Caselli émet l'hypothèse que l'action anti-virale du lysozyme serait due à une fixation de cet enzyme au virus, probablement par une combinaison avec une nucléoprotéine. (Cet auteur a démontré que le lysozyme avait une tendance à se combiner avec des protéines électronégatives, dont les nucléoprotéines). Ainsi s'expliquerait aussi l'action inhibitrice du lysozyme envers le virus bactériophage de Pirie, le virus sarcomateux de Caselli et Schumacher.

L'effet du lysozyme dans le trachome a été étudié par Redi; une action favorable sur les incisions cellulaires n'a pas pu être mise en évidence, seuls les phénomènes inflammatoires banaux de la conjonctive subissaient une légère régression.

Du point de vue thérapeutique, Orzalesi et Migliori ont employé avec succès de lysozyme dans des affections herpétiques des yeux.

Immunologie : Smomelis et Charney ont étudié l'effet antigénique du lysozyme cristallisé. Cette substance préparée à partir de blanc d'oeuf produit des anticorps spécifiques lorsqu'elle est injectée chez le lapin. Ce sérum de lapin anti-lysozyme inhibe l'activité du lysozyme sur *Micrococcus lysodeikticus*. En outre, les antiséras d'un certain lysozyme inhibent seulement ce lysozyme dépendant d'après les sources d'extraction, ainsi que Fleming l'avait pensé (1932). Ces auteurs signalent le

danger que peut comporter l'introduction dans l'organisme humain de préparation de lysozyme pouvant provoquer la formation d'anticorps.

Signification du lysozyme dans la nature : Le fait que cette substance est tellement répandue dans le règne animal et végétal et qu'elle présente dans la plupart des exsudats inflammatoires permet de considérer 2 hypothèses:

1) Rôle défensif: Ceci semble être la fonction principale tant chez l'animal que chez les plantes qui le possèdent. Il a été constaté que l'enzyme se trouve dans des plantes tropicales, telles que Papaya et Ficus; Smith et Kummel se demandent dans ce cas si le rôle du ferment n'est pas d'éloigner les aphytes de la plante, tant que les fruits ne sont pas murs.

2) Rôle biochimique : Ce dernier reste encore obscur. Les travaux de Caselli concernant la facilité avec laquelle l'enzyme se combine avec certains colloïdes dans des conditions physiologiques ont été mentionnés. Se peut-il aussi que le lysozyme participe au ramolissement des parois cellulaires lors de la mitose ? Il est possible que le lysozyme possède encore des pouvoirs immunologiques mal connus. Signalons aussi que récemment, Dickman et Proctor ont réussi à démontrer que le lysozyme est inactivé par la lumière en présence de riboflavine (de façon semblable à l'uréase, l'alpha-amylase, la tyrosinase et les bactériophages).

Concentration des lysozymes dans la nature : Pour terminer ce chapitre, citons à titre comparatif quelques chiffres concernant la concentration des lysozymes dans diverses sécrétions, dans le sang et dans quelques plantes.

Estimations viscométriques (d'après Meyer et Hahnel)

Blanc d'oeuf	12.500	unités par c.c. en gm.					
Larmes	950	"	"	"	"	"	"
Salive	1,3 à 1,7	"	"	"	"	"	"
Cartilage de cobaye	10,0	"	"	"	"	"	"
Serum de cobaye	0,8	"	"	"	"	"	"
Colon de cobaye	0,5	"	"	"	"	"	"
Glande lacrymale de cobaye	0,5	"	"	"	"	"	"
Cartilage humain	36,3	"	"	"	"	"	"
Fieus elastica	9,1	"	"	"	"	"	"
Ficus lyrata	17,4	"	"	"	"	"	"
Ficus (peru)	145.000	"	"	"	"	"	"
Euphorbia pulcherima	18,2	"	"	"	"	"	"

Les larmes possèdent un pouvoir lytique à une concentration de 1 : 40.000 tandis que la salive est active jusqu'à 1 : 300.

III. Fonctions antibactériennes de la salive

Il est bien connu depuis fort longtemps que la salive possède une action antibactérienne. Les Romains par exemple, appliquaient de la salive de cheval sur les plaies (Rauch). D'autre part, les lésions traumatiques ou chirurgicales de la cavité buccale guérissent plus rapidement qu'ailleurs et les infections secondaires de ces blessures sont rares, malgré la grande richesse en micro-organismes de la flore buccale. Le sujet n'a pas été étudié de façon systématique jusqu'à présent; la découverte du lysozyme par Fleming, de l'inhibine et de la mutine par Dold a certainement contribué à l'intérêt accru que rencontre actuellement la question de "liquide buccal" ainsi que les stomatologues (Dold, Mariani) ont tendance à appeler maintenant le complexe formé par les diverses sécrétions salivaires, la leucocyte et les anticorps contenus dans la cavité buccale.

Les fonctions antibactériennes de la salive peuvent être résumées de la façon suivante: (d'après Dold).

- 1) Action purement mécanique d'élimination des germes et des agents irritants.
- 2) Le lysozyme.
- 3) L'inhibine (une substance inhibant) le développement des micro-organismes et agissant sur les pathogènes et les saprophytes).
- 4) La mutine (substance transformant certaines qualités de bactéries).

A ces quatre fonctions pourraient s'ajouter celles des leucocytes, des phagocytes, des anticorps contenus dans la bouche et du sulfocyanate de potassium, substance de déchet, éliminée par la salive.

Le lysozyme salivaire en pathologie buccale et générale: Ces relations ont été relativement peu étudiées; les quelques travaux s'y rapportant proviennent surtout d'auteurs italiens. Il a été ainsi démontré que dans des cas de herpès labial il se produit une chute de l'activité du lysozyme dans la salive (Giufre). Les auteurs italiens avaient précédemment noté le fait que le herpès se fixe de préférence sur les tissus pauvres en lysozyme. Les expériences de Rudinu nous intéressent particulièrement. Toutefois, il faudrait attendre que ces résultats soient confirmés par d'autres méthodes, notamment par les méthodes perfectionnées de Dickman et Proctor, de Meyer et Hahnel ou de Smomelis avant qu'il soit possible de les accepter intégralement. Cet auteur a effectué la détermination du pouvoir lytique de la salive chez deux cent vingt sujets normaux et

pathologiques en utilisant la méthode de Caselli (appréciation de la diminution de turbidité d'une solution microbienne standard). Ces deux cent vingt sujets ont été divisés en douze groupes :

Groupe 1 : quarante sujets mâles de 21 ans environ, bien portants, avec une bouche saine et une dentition complète, sans carie ni dépôts de tartre. Taux moyen de lysozyme = 5120 UFL. Les unités Fleming (UFL) correspondent à la dilution de la solution contenant le lysozyme nécessaire pour obtenir 50% d'éclaircissement d'une solution de Micrococcus lysodiekcticus. Ce chiffre est très proche du taux donné par Petrine pour des sujets normaux.

Groupe 2 : vingt sujets mâles de 21 ans environ, en bonne santé générale mais présentant chacun 4 à 6 caries dentaires non traitées et des dépôts de tartre. Taux moyen = 2560 UFL.

Groupe 3 : vingt femmes de 21 ans environ, en bon état général et dentaire. Taux moyen : 1280 UFL.

Groupe 4 : Femmes de 21 ans environ, en bon état général et dentaire, au 8 - 9ème mois de la gestation. Taux moyen = 2560 UFL.

Groupe 5 : vingt femmes enceintes comme dans groupe 4, mais avec 4 - 6 dents cariées chacune. Taux moyen : = 2560 UFL.

Ces données relatives au taux de lysozyme dans la gestation concordent avec les résultats de Nicora et Carta qui ont trouvé une hausse du lysozyme dans la salive à partir du 3ème trimestre de la gestation. Il semble donc y avoir une sécrétion accrue durant la grossesse (phénomène compensateur, les dents à ce moment étant plus délicates).

Groupe 6 : vingt mâles avec des ulcères peptiques et des caries dentaires. Taux moyen = 5120 UFL.

Meyer, Khorazo, Thomson et Palmer ont trouvé de fortes quantités de lysozyme dans les selles d'individus ayant des ulcérations du système gastro-intestinal, avec diminution du lysozyme durant les rémissions. Ces auteurs ont pu aussi provoquer des ulcères du tube digestif chez des chiens, en administrant de fortes doses de lysozyme par voie buccale. Récemment, Petrina a dosé simultanément les taux de lysozyme dans la salive et dans le sang chez des personnes souffrant d'ulcères peptiques et chez des sujets normaux. Les taux de lysozyme dans le sang étaient semblables, mais les valeurs salivaires étaient plus élevées chez les personnes portant des ulcères. En outre, alors que normalement la courbe obtenue en diluant le lysozyme tombe graduellement

chez les ulcéreux. La courbe du lysozyme salivaire ne baissait pas régulièrement au début. Ces altérations ne sont pas présentes chez les personnes présentant des ulcérations cicatricielles ou guéries. Pour essayer, le taux du lysozyme semble un facteur important dans la pathologie des ulcérations du tube digestif. Ce problème sera abordé encore dans le chapitre suivant; soulignons cependant cette hausse du lysozyme salivaire dans les ulcères actifs du tube digestif.

Groupes 7 et 8 : Cas de trachome. Taux moyen = 1280 UFL.

Ces malades étaient âgés de 9 à 30 ans et présentaient des caries dentaires. Le taux du lysozyme ne variait pas avec l'âge. D'après Rudinu, il n'existe pas de relation directe entre l'affection oculaire et les valeurs de lysozyme; ces taux sub-normaux seraient dus aux caries dentaires.

Groupes 9 et 10 : sujets de 21 ans avec des phénomènes otitiques actifs. Taux moyen = 1280 HFL.

Groupe 11 : sujets tuberculeux avec des cavernes pulmonaires. Taux moyen : 1280 UFL. Ce résultat est contraire à celui obtenu par d'Alfonsonini, ce dernier ayant trouvé une élévation du taux de lysozyme salivaire dans la tuberculose.

Groupe 12 : Mâles de 20 ans environ, neurasthéniques avec caries dentaires. Taux moyen = 640 UFL.

Notons ce taux très bas que l'auteur (Rudinu) attribue à une chute des défenses naturelles dans la neuroasthénie.

Une remarque s'impose ici cependant; ces expériences ont été faites d'après la méthode de Caselli, dans laquelle le degré de turbidité est confié à l'oeil nu avec des concentrations différentes de *Micrococcus*. En outre, des solutions toujours à pH connu ne sont pas utilisées, en sorte qu'une réserve doit être faite concernant la valeur de ces chiffres, tant que ces derniers n'ont pas été confirmés par des méthodes plus complexes employant la néphélométrie.

Comment expliquer la réaction indéniable qui existe entre le taux de lysozyme et la tendance à la carie dentaire ? Le rôle bactéricide de ce ferment est évident, mais en outre, Rudinu estime que le lysozyme étant de nature basique exerce une action trophique et protectrice sur les tissus dentaires. Mariani, partant de ce principe, s'est efforcé de démontrer une relation entre le contenu en lysozyme de la pulpe dentaire et les affections de cette dernière, avec des résultats confirmant les vues citées plus haut.

L'inhibine et la mutine : L'inhibine, découverte par Dold, aurait le pouvoir d'inhiber le développement de germes pathogènes et saprophytes, sans toutefois les détruire. La mutine aurait le pouvoir de transformer certains germes pathogènes en non-pathogènes. Ces deux substances sont répandues dans le règne animal et végétal, mais leur action la plus intense s'exerce dans la salive. L'inhibine est de nature semblable à un ferment (Mariani); elle est thermostable, non filtrable et active uniquement sur des micro-organismes vivants. Quant à la mutine, on ne possède pas de détails concernant sa nature et son action. Des expériences faites avec l'inhibine démontrent clairement son action sur la flore habituelle de la cavité buccale de même que sur d'éventuels pathogènes.

Le tableau I emprunté à Wendling démontre l'effet de l'inhibine sur différents germes.

Tableau I

Espèces de bactéries	Solution d'agar et de salive fraîche	Solution d'agar et de salive inactivée
B. diphtérique	-	++++
B. pseudodiphtérique	—+	++++
Staphylocoques dorés	+	++++
Tétragènes	-	+++
Streptocoques	-	++
B. Coli	++	++++
B. typhique	-	++++
B. para-typhique	+	++++
Prodigiosus	—+	++++
Vibrion de Metschnikoff	-	+++
Vibrion Choléra	-	+++
Bactérie charbonneuse	-	++++
B. Friedlander I	-	++++
B. Friedlander II	-	++++
Rhinosclérome II	-	+++
Rhinosclérome III	-	+++
Ozène I	-	+++
Ozène II	-	+++

Mariani estime que l'inhibine est d'une importance capitale dans l'immunité naturelle et pense que cette substance a une action sur le bacille de Koch. D'après cet auteur, le lysozyme comme l'inhibine et la mutine seraient des produits de sécrétion des leucocytes. Mariani cite également les différences constatées entre le lysozyme et l'inhibine.

(d'après Wendling) : tableau II.

Tableau II

Lysozyme

Présent dans les cavités closes du corps. Rare dans le règne végétal.

Action principale : lyse bactérienne.

Action secondaire accessoire sur les bactéries.

Actif surtout sur les saprophytes mais aussi sur quelques germes pathogènes (action inhibitrice ou flocculante sans lyse).

Action maximale à un pH défini (pH 6,6).

Inhibine

Absente dans les cavités closes du corps. Répandue dans le règne végétal.

Action inhibitrice uniquement.

Action inhibitrice sur la plupart des micro-organismes, y compris les micro-organismes, acido-résistants. Les pathogènes et les saprophytes sont sensibles de façon égale à son action.

Action maximale à la concentration dans laquelle elle se trouve dans l'organisme.

En conclusion, la salive est admirablement constituée pour empêcher une prolifération excessive des micro-organismes dans la cavité buccale et pour lutter contre les germes pathogènes, afin d'assurer la constance du "milieu buccal", de façon analogue au "milieu interne" de Claude Bernard.

IV. Etudes sur le lysozyme contenu dans le mucus nasal, les larmes, le sang et ailleurs

Le lysozyme dans le mucus nasal : étude par l'électrophorèse.

Cette question a été étudiée par Caselli. Il est en effet possible de séparer le lysozyme des autres protéines du mucus nasal au moyen de l'électrophorèse sur papier. La molécule de lysozyme étant constituée par une forte proportion d'acides aminés basiques, donc chargés positivement, se dirige vers le pôle négatif, l'albumine et la globuline étant attirée par le pôle positif. Cette dissociation du lysozyme et des autres protéines s'effectue non seulement en milieu acide, mais également en milieu alcalin (jusqu'à pH 11). L'électrophorèse sur papier est ainsi la méthode de choix pour séparer et doser le lysozyme d'un milieu protéinique. Caselli ajoute que cette méthode présente un autre avantage lors du dosage du lysozyme, la détermination de l'activité de cet enzyme n'étant pas troublée par la présence d'inhibiteurs. Ceux-ci qui pourraient être gênants lors de la détermination du pouvoir bactériolytique du lysozyme, sont en effet attirés vers le pôle positif lors de l'électrophorèse (les inhibiteurs sont la plupart tous des colloïdes électro-négatifs).

Méthode: Prélèvement de la sécrétion nasale au moyen de tampons hydrophiles; ceux-ci sont ensuite passés de leur contenu dans des éprouvettes. Le liquide obtenu est centrifugé et conservé dans de la glace.

0,3 à 0,1 cc. sont déposés sur le papier buvard employé lors de l'électrophorèse.

La solution utilisée pour la conduction électrique est une solution tampon de diéthyl barbiturique sodique 0,05 M à pH 9 ou une solution tampon phosphates monosodiques-disodiquées à un pH de 7,6.

La coloration des protéines s'effectue au moyen du bleu de brome-phénol à 1% dans de l'éthanol saturé en sublimé sur du papier précédemment exposé pendant 15 minutes à 100°C. Après une demi heure d'immersion dans la solution colorante, le papier est lavé au méthanol 50%, saturé de sublimé, ensuite à l'acide acétique 1%; et finalement dans de l'eau distillée.

Résultats obtenus grâce à cette méthode : Quatre fractions émigrées à l'anode et deux au cathode ont pu être mises en évidence. Les protéines se dirigeant au pôle positif contiennent les albumines et globulines, de façon analogue aux protéines sériques. Des deux fractions dirigées vers la cathode (fractions V et VI) la fraction VI constitue le dépôt du lysozyme. D'après l'intensité de coloration des protéines déterminées au moyen de l'électrophotomètre, Caselli a obtenu les valeurs suivantes concernant la proportion des fractions protidiques présentes dans le mucus nasal :

Fraction I	25,1 %
Fraction II	21,4 %
Fraction III	9,2 %
Fraction IV	11,6 %
Fraction V	15,6 %
Fraction VI	17,2 %

Il ressort de ces expériences que le lysozyme représente environ 1/5 des protéines totales présentes dans le mucus nasal.

Si du lysozyme est ajouté au sang dans la proportion de 0,2 %, le schéma électrophorétique obtenu ressemble à celui du mucus avec apparition d'une bande colorée vers la cathode (correspondant exactement à la fraction V).

Le lysozyme dans la sécrétion lacrymale; étude électrophorétique : En jugeant d'après l'intensité de coloration de la fraction de lysozyme dans l'électrophorèse sur papier, les larmes sont plus riches en lysozyme que les sécrétions nasales (Caselli et Schumacher). Il est donc prouvé que si l'activité bactériolytique des sécrétions nasales est inférieure à celle des larmes, ceci n'est pas dû à la présence d'inhibiteurs dans le mucus nasal.

Mc Ewen et Kimura ont étudié les tracés électrophorétiques des larmes et ont également trouvé que le lysozyme se dirige vers la cathode (à un pH de 7,8). Les fragments de papier contenant la bande de lysozyme démontre aussi in vitro une activité bactériolytique sur *Micrococcus lysodéicticus*; cette action lytique était tout à fait comparable à celle obtenue avec le lysozyme du blanc d'oeuf. Cliniquement, ce sont surtout des cas de kérato-conjonctivites sèches qui présentent une réduction dans la proportion de lysozyme sécrétée.

Le lysozyme dans le sang : La proportion de cet enzyme dans le sang est trop faible pour être démontrée par l'électrophorèse sur papier, sauf dans des cas où elle est très augmentée (Caselli). Une élévation

du taux de cette substance dans le sang se produit dans presque toutes les infections (Weiser).

Plusieurs auteurs ont signalé la présence du lysozyme dans le sang. Chez le lapin et le chat, Barnes a trouvé de petites quantités de cette substance dans les lymphocytes et, par contre, d'importantes quantités dans les polynucléaires et les mononucléaires. Sammons a fait remarquer que l'activité lytique du sang varie de façon proportionnelle avec le nombre de polynucléaires. Hiatt a en outre démontré que le lysozyme se trouve dans les polynucléaires et non dans le plasma : la quantité de lysozyme étant augmentée par la destruction des polynucléaires. Les travaux de Flanagan ont confirmé ces résultats : le lysozyme dans le sang est uniquement présent dans les leucocytes. Lorsque ces cellules sont lysées, le taux d'activité du lysozyme est quintuplé. Cette substance est donc normalement présente à l'intérieur du polynucléaire. Ajoutons qu'une méthode destinée à estimer l'intégrité des leucocytes dans un échantillon de sang a été élaborée en se fondant sur le taux de lysozyme présent (Flanagan).

Les auteurs italiens signalent cependant qu'un rapport entre le pouvoir lytique du sang et la leucocytose existe seulement dans 72 % des cas (Cutinelli et Manna). Dans un cas d'angine avec agranulocytose, malgré la disparition des leucocytes dans le sang, du lysozyme était présent. Ces observations ont incité Rudinu à se demander si l'enzyme n'était pas fabriqué par le système réticulo-endothélial et conservé dans les leucocytes.

Relations entre le lysozyme et les ulcérations du tube digestif :
Nous touchons là à un point important concernant le lysozyme. Il a été signalé plus haut que des sujets présentant des ulcères peptiques actifs ont des taux de lysozyme anormalement élevés dans la salive (mais pas dans le sang). De nombreux travaux expérimentaux viennent de confirmer cette relation. Chez des chiens ayant une gastrectomie, Meyer a introduit du lysozyme dans l'estomac avec formation d'un ulcère. Chez cinq ulcéreux, le taux de lysozyme est tombé brusquement (à 44 %) après vagotomie ce qui a incité Meyer à penser qu'il doit exister un rapport entre le tempérament ulcéreux et la production de lysozyme dans la salive et dans le suc gastrique.

En outre, dans la colite aiguë, la muqueuse du colon contient huit fois plus de cet enzyme que normalement, alors que dans la colite chronique, la muqueuse en contient vingt-sept fois plus. Grace et coll. ont étudié cette question chez un patient avec une fistule du colon; en appliquant un tampon de coton imbibé de larmes sur la

muqueuse, une ulcération s'est produite au bout de vingt-quatre heures. Des contrôles effectués avec des solutions physiologiques, des larmes bouillies et du coton sec ne produisent aucune réaction. La colite ulcéreuse non spécifique serait-elle due à un excès de lysozyme ?

Tonsillite et teneur en lysozyme : Effectuant des recherches sur le système vasculaire dans les infections amygdaliennes, Guerrisi estime qu'il existe une différence importante entre l'amygdalite focale et l'amygdalite hypertrophique. Dans la première, le réseau vasculaire est profondément altéré, en sorte que l'irrigation sanguine de l'amygdale se fait mal, tandis que dans l'amygdalite hypertrophique, la structure vasculaire normale est conservée.

Cet auteur a pu démontrer que la teneur en lysozyme dans l'amygdalite focale est diminuée, alors qu'elle est augmentée dans l'amygdalite hypertrophique. Ceci s'explique par le fait que le réseau sanguin est altéré dans l'amygdalite focale avec une diminution dans l'apport de lysozyme par le sang (en effet, le lysozyme provient des leucocytes contenues dans le sang), d'où diminution de la résistance locale aux infections. Dans l'amygdalite hypertrophique par contre, la circulation sanguine étant bonne, il se produit une accumulation locale de lysozyme avec une résistance accrue aux infections locales.

Teneur en lysozyme chez des animaux carencés en vitamines C et chez des animaux irradiés : Lino et Bernardini ont déterminé la quantité de lysozyme présente dans divers tissus chez des animaux carencés en vitamine C. Ces auteurs ont trouvé une diminution de lysozyme allant de 30 à 50 % et émettent l'hypothèse que la diminution de la résistance aux infections de sujets carencés en vitamine C est en partie liée avec la baisse du lysozyme.

La teneur en lysozyme de tissus irradiés a été étudiée par Bernardini; on sait en effet que les rayons ont une action néfaste sur la série blanche. Une série de rats fut divisée en quatre groupes: 1er groupe de 7 rats: irradiation de la tête; 2ème groupe: irradiation du thorax et de l'abdomen; 3ème groupe: irradiation de tout le corps; 4ème groupe de contrôle

Après quinze jours, les animaux furent sacrifiés et des prélèvements tissulaires obtenus suivant le procédé de Bordet. Les animaux ayant subi une irradiation du thorax, de l'abdomen et de tout le corps présentèrent une diminution de la teneur en lysozyme, alors que les rats ayant eu une irradiation de la tête ne montrèrent pas de variation dans le taux de lysozyme par rapport aux contrôles.

Applications thérapeutiques du lysozyme : Celles-ci sont encore mal définies. L'Ecole de Cagliari a employé cet enzyme dans des affections à virus des yeux (kératites herpétiques) avec succès. Mariani conseille l'emploi du lysozyme dans la carie dentaire et en général dans toutes les infections bucco-dentaires ainsi que dans la tuberculose. Toutefois, il ne faut pas oublier que le lysozyme est capable de former des anticorps et de provoquer des ulcérations du tube digestif, en sorte que son emploi dans la pratique courante ne paraît pas encore tout-à-fait justifié.

V. Conclusions

- 1) L'activité antibactérienne de la salive peut être attribuée aux facteurs suivants :
 - a) action purement mécanique d'élimination des germes et des agents irritants.
 - b) le lysozyme (ferment polypeptidique de nature basique lysant la paroi cellulaire de nombreux saprophytes en dépolymérisant les mucopolysaccharides de la paroi cellulaire. Sous des conditions expérimentales adéquates, le lysozyme a aussi une action lytique et inhibitrice sur des germes pathogènes. Cet enzyme exerce également une action inhibitrice sur le bacille de Koch et sur certains virus).
 - c) l'inhibine (une substance découverte par Dold et qui inhibe le développement de germes saprophytes et pathogènes).
 - d) la mutine (qui modifierait la nature des germes en convertissant les pathogènes en saprophytes).

A ces facteurs s'ajoutent aussi l'effet des leucocytes, phagocytes et anticorps présents dans le liquide buccal.
- 2) Le taux de lysozyme dans la salive est abaissé dans la carie dentaire et dans la neurasthénie. Ce taux est élevé par contre dans les affections ulcéreuses du tube digestif. Il a été démontré que le lysozyme est capable de provoquer expérimentalement des ulcères du tube digestif.
- 3) Dans l'électrophorèse sur papier du mucus nasal, le lysozyme étant basique est attiré vers le pôle négatif alors que les autres protéines se dirigent vers l'anode. L'électrophorèse constitue la méthode de choix pour séparer le lysozyme d'un milieu protéidique; elle peut en outre servir à déterminer le taux de cette substance. Il a été aussi démontré que le lysozyme représente $1/5$ de la quantité totale de protéines dans le mucus nasal.

R é s u m é

Dans ce travail, l'action antibactérienne de la salive a été étudiée. Une revue des propriétés biochimiques et bactériologiques du lysozyme a été faite ainsi que des observations concernant les taux normaux et pathologiques de cette substance dans la salive. Ce taux est bas dans des cas de caries dentaires et de neurasthénie et élevé dans des cas d'ulcérations du tube digestif. Le lysozyme exerce une action bactériolytique principalement sur les saprophytes, mais de nombreux pathogènes, bacille de Koch et certains virus sont inhibés dans leur développement.

L'électrophorèse sur papier du mucus nasal et des larmes avec isolation du lysozyme a été décrite. Le lysozyme dans le sang et dans d'autres tissus a été aussi étudié, surtout à titre comparatif.

VI. Bibliographie

- 1) ANCHER R., CHAUVET J. et coll.: Isolement et caractérisation des peptides courts obtenus par hydrolyse acide; étude de la structure du lysozyme et de la vasopressine. Bull. Soc. chim. biol. Par. 36: 167-79, 1954.
- 2) ANCHER R., JUILIS M. et FROMAGEOT C.: Sur la structure du lysozyme. Biochim., biophys. Acta Amst. 8: 442-9, 1952.
- 3) ALBERTON G. et LEWIS J.C.: Science 101, 1945.
- 4) AMERISIO L. et PALLA Y.: Il comportamento del lisozima nei soggetti normali affaticati, Fol. med., Nap. 36: 372, 1953.
- 5) AVIC C.M., SAVINI E.: Resistenza al lisozima della neisseria isolate della saliva di individui Sani, Nuovi ann. igiene microb. 15: 188-9, 1954.
- 6) BECKER M.E., HARTSELL S.E.: Factors affecting bacteriolysis using lysozyme in dual enzyme systems. Arch. Biochem. N.Y. 53: 402, 1954. The synergistic action of lysozyme and trypsin in bacteriolysis. Arch. Biochem. N.Y., 55: 267, 1955.
- 7) BERNARDINI A.: Il lisozima nei tessuti di animali irradiati, Boll. Soc. ital. biol. sper. 30: 1073-5, 1954.
- 8) BRANADORE G. et POGLIO E.: Su alcuni poteri di difesa organica durante inerbazione artificiale, Giorn. ital. chir. 9: 880-6, 1953.
- 9) BRONKHORST N. et ROUSSEAU E.: Untersuchungen zur Verbesserung der Lysozymebestimmungsmethode. Klin. Wschr. 32: 181-2, 1954: "Bericht über lysozymuntersuchungen im Urin", Klin. Wschr. 32: 182, 1954.
- 10) BUSSINELLO S. et coll.: Influenza della idrazide dell'acido isopiricotipico sull'attività, lisozimica del siero nell'uomo tubercolotico. Arch. fisiol., Napl. 9: 967, 1954.
- 11) CASFILI F.: Elettrofores: su carta dei protidi del secreto nasale: separazione e dimostrazione del lizozima. Ras. med. Sarda 56: 19-30, 1954: Indagini sulla tendenza del lisozima a formare complessi con colloidi non proteici e con colloidi proteici. Rass. med. Sarda 56: 389-400, 1954.

- 12) COLVIN J.R.: The adsorption of methyl orange by lysozyme, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 32: 109-118, 1954.: A note on the stoichiometry of adsorption of anions by lysozyme. *Canad. J. of Biochem. and Physiol.* 33: 651-3, 1955.
- 13) DE BERNARD B. et SECCHI A.: Uso del eloridrato di trifeniltetrazolo nella determinazione, dell'attività litica del lisozima. *Boll. soc. ital. biol. sper.* 30: 459-60, 1954.
- 14) DICKMAN S.R., KROPF R.B. et PROCTOR C.M.: Reactions of xanahydrol. insulin, lysozyme and ribonuclease. *J. Biol. chem.* 210:491-7, 1954.
- 15) DICKMAN S.R. et PROCTOR C.M.: Factors affecting the activity of lqq white lysozyme. *Arch. Biochem. and Biophys.* 40: 364, 1952.
- 16) GABURRO D.: Il potere lisozimico et tagocitario del sangue nelle malattie microbiche delle lattante, *Acta pediat. lar.* 6: 936-52, 1953.
- 17) GIANNONI E. et BERNICCHI L.: Ricerche sul lisozima nel siero et nel muco nasale di soggetti normali et laringectomizzati. *Clin. otorinolar. Roma* 6: 261, 1954.
- 18) CORINI L., FELIX F. et FROMAGEOT L.: Influence de manganèse sur la stabilité du lysozyme. *Biochim. biophys. Acta* 12: 283-8, 1953.
- 19) GRULA E.A. et HARTSELL S.E.: Lysozyme and morphological alterations induced in *Micrococcus lysodeikticus*. *J. Bact. Balt.* 68: 171-7, 1954: Lysozyme action and its relation to the Nakamura effect. *J. Bact. Balt.* 68: 302-6, 1954.
- 20) GUERRISI G.: Le modifiche vascolari nella genesi del lisozima a seconda delle varie forme di flogosi tonsillari, *Acta med. ital. mal. infett.* 10: 92-5, 1955.
- 21) HIATT R.B., ENGLE C. et KARUSHI K. The role of the granulocyte as a source of lysozyme in ulcerative colitis. *J. Clin. Investig.* 31: 721, 1952.
- 22) FLANAGAN P. et LIONETTI, F.: lysozyme distribution in blood. *Blood. Balt.* 10: 497, 1955.

- 23) FLEMING A.: On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc. Roy. Soc., Series B, 93:306. 1922: Proc. Roy. Soc. Med. 26: 71, 1932.
- 24) FOGELSON S.I. et LOBSTEIN O.E.: A statistical comparison of the blood lysozyme activity of normal adults and of patients with localized and generalized carcinomatosis. Am. J. Digest. Dis. 21: 324-6, 1954.
- 25) KAPP H.: Mucus, lysozyme et histamine dans l'ulcère expérimental. Arch. mal. appar. digest. Par. 42: 1259-60, 1953.
- 26) KERBY G-R.: A method for the detection of leucocyte injury based on release of a lysozyme like substance. Moc. Soc. Biol. and Med. 81: 129, 1952.
- 27) LANDUCCI L. et BIACINI R.: Il contenuto e le variazioni fisiologiche del lisozima nel siero di sangue del bambino. Riv. clin. pediat. 52: 293-9, 1953.
- 28) LINO A. et BERNARDINI A.: Attività lisozimica dei tessuti di animali carenti di acido ascorbico. Boll. Soc. ital-biol. sper. 30: 1070-3, 1954.
- 29) MARIANI M.: Il liquido buccale, Riv. ital. stomat. 9: 1621-32, 1954.
- 30) Mc EWEN W.K., KIMURA S.I.: Filter-paper electrophoresis of tears Am. J. Opht. 39: 200 - 2, 1955.
- 31) MEYER K.: Lysozyme, Bull. N. York Acad. 30: 995-6, 1954.
- 32) MIGLIOR M. et PIRODDA A.: Sul contenuto di lesozima dell'uno di polla incubato in rapporto alla cultora del virus erpetico. Rev. Ist. sieroter. ital. 29: 115-21, 1954.
- 33) MYRUIK Q.N. et WEISSER R.S.: Studies on antibacterial factors in mammatian tissues and fluids. I. Immunol. 74: 9-16, 1955.
- 34) NAKAMURA O.: Ueber lysozymwirkungen, z. immunitätforsch 38:425, 1923.
- 35) NARDUCCI U.: Il potere lisozimico del liquido lacrimale del neonato impossibili rapporti tu lisozimo lacrimale et profilassi oculare neonatale. Minerva gin. Torino, 6: 117-22, 1954.

- 36) PENISTON F.L. et HARRIS J.O.: The effect of lysozyme on the electrophoretic mobility of certain cocci- *Exper. Cell. Res.* 6: 307-10, 1954.
- 37) PETERSON R.G. and HARTSELL S.E.: The lysozyme spectrum of the gram. negative bacteria. *I. Infect. Dis.* 96: 75, 1955.
- 38) REDI F.: Comportamento degli inclusi cellulari e del decorso clinico del tracoma trattato localmente con lesozima. *Rass. med. Sarda* 55: 477-9, 1953.
- 39) RUDINU I.: Il lisozima nella saliva. *Rass-med. Sarda* 56, 67-92, 1954.
- 40) SALTON M.R.: Cell structure and the enzyme lysis of bacteria *J. Gen. Microb. Cond.* 9: 512, 1953.
cell wall of *Micrococcus lysodeikticus* as the substrate of lysozyme. *Nature* 170:746, 1952.
- 41) SANGIORGI G.: *Bass. Clin. Sc.* 24: 244, 1948.
- 42) SECCHI A.: Sulla presunta capacità del lisozyima di modificare la viscosità della sinovia. *Bull. Soc. ital. biol. sper.* 29: 788-9, 1953.
- 43) SCIANNAMEO N.N. et BENESTITO V.: Recherche sperimentali sur liso-
zima. *Boll. Soc. ital. biol. sperim.* 30: 571-4, 1954.
- 44) SKARNES R.C. et WATSON D.W.: The inhibition of lysozyme by acid polymers from pathogenic bacteria. *I. Bact. Balb.* 70: 110-2, 1955.
- 45) SMITH E.L. et coll.: Isolation and properties of a crystalline mercury derivative of a lysozyme from papaya latex. *J. Biol. chem.* 215: 67-89, 1955.
- 46) SMOMELIS A.N. et HARTSELL S.E.: Factors affecting the lytic activity of lysozyme. *J. Bact.* 63: 665, 1952.
the antigenicity of crystalline lysozyme. *I. Bact.* 54: 101, 1947. : The determination of lysozyme *I. bact.* 58: 731, 1949.
- 47) THOMPSON A.R.: Amino acid sequence in lysozyme. *Biochem. J. London*, 60: 507-15, 1955.
- 48) WIAME J.M., STORK, R.: Synthèse induite d'enzyme dans des cellules de bacilles subtiles lysées par le lysozyme. *Arch. internat. physiol. Liège*, 63: 272, 1955.

- 49) WARREN G.H., LAM G.I.: Action of hyaluronidase and lysozyme on *Sarcina flava*. Arch. Biochem. N.Y. 50: 368-75, 1954.
- 50) WEISER R.S.: The antibacterial action of lysozyme on tubercle bacilli Tuberculology 14: 217-9, 1954.
- 51) WILCOX F.H. et DANIEL L.I.: Reduced lysis at high concentration of lysozyme. Arch. Biochem. N.Y. 52: 305-12, 1952.
- 52) WILKINSON E.E. et LEHMAN E.P.: The relationship of lysozyme to the mechanism and cause of death in intestinal obstruction. Surg. Forum 38. Congrès pp 94-100, 1952.
- 53) ZAOLI G.: Attività lisozimica delle saliva in corso di terapia con aureomicina. Otorinolar, ital. 22: 175, 1954.

Table des matières

- I. Introduction
- II. Considérations biochimiques et bactériologiques
- III. Fonctions antibactériennes de la salive
Observations cliniques et pathologiques
- IV. Etudes sur le lysozyme contenu dans le mucus nasal,
les larmes, le sang et ailleurs.
- V. Conclusions et résumé
- VI. Bibliographie

